

# exbio

DryFlowEx TBNK 6-color  
50 pruebas | Cat. N° ED7736



## Instrucciones de uso (ES)

Versión: ED7736\_IFU\_v2\_ES

Fecha de emisión: 13-02-2024

### Símbolos utilizados en el etiquetado del dispositivo

	Producto sanitario para diagnóstico IN VITRO		Límite de temperatura
	Marca CE		Mantener apartado de la luz del sol
	Fabricante		Mantener seco Mantener alejado de la lluvia
	Identificador único de dispositivo		Caution
	Consulte las instrucciones de uso		No reutilizar
	Contiene suficientes para <n> pruebas		Contiene <n> tubos para pruebas de un solo uso
	Número de catálogo		Contenido
	Código de lote		Marca UKCA
	Fecha de caducidad		

## 1. Objetivo previsto

DryFlowEx TBNK 6-color está diseñado para la detección y enumeración de poblaciones y subconjuntos de linfocitos en sangre total humana mediante citometría de flujo.

### Qué se detecta y/o mide

El dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color detecta y mide porcentajes relativos y cifras absolutas de linfocitos T humanos (CD3+), linfocitos B (CD3-CD19+), linfocitos T citotóxicos (CD3-CD16+56+), linfocitos T cooperadores/auxiliares (CD3+CD4+) y subconjuntos de linfocitos T supresores/citotóxicos (CD3+CD8+).

### Función del dispositivo

El dispositivo está diseñado para su uso en la evaluación inmunológica de pacientes normales y podría ayudar en el diagnóstico de pacientes que tienen, o se sospecha que tienen, inmunodeficiencia.

### Contexto de un estado fisiológico o patológico

Las frecuencias de las poblaciones de linfocitos medidas por el dispositivo pueden verse afectadas por diversas condiciones patológicas, y la evaluación de sus porcentajes y cifras puede utilizarse para evaluar lo siguiente:

- progresión de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) <sup>(1, 5, 9, 11)</sup>
- inmunodeficiencias hereditarias <sup>(3, 4, 13, 14, 17, 19)</sup>
- enfermedades autoinmunitarias <sup>(6, 8)</sup>
- defectos en la defensa inmunitaria innata <sup>(15, 16)</sup>

### Tipo de ensayo

No automatizado

Cuantitativo

### Tipo de muestra requerida

Muestra de sangre total periférica anticoagulada humana

### Población sometida a pruebas

No apta para una población específica.

## 2. Usuario previsto

El aparato está destinado exclusivamente a un uso profesional en laboratorio. No para pruebas cercanas al paciente o autodiagnóstico.

### Requisitos de cualificación

El usuario previsto deberá poseer los conocimientos más avanzados en análisis de citometría de flujo de células humanas, técnicas de laboratorio estándar, incluidas

habilidades de pipeteo, y manipulación segura y adecuada de muestras derivadas del cuerpo humano.

El usuario previsto deberá cumplir la norma EN ISO 15189 u otras disposiciones nacionales, en su caso.

### **3. Principio de prueba**

El principio de la prueba se basa en la detección de la unión de anticuerpos monoclonales a una molécula específica (antígeno) expresada por ciertos glóbulos sanguíneos humanos. Los anticuerpos monoclonales utilizados en la prueba se marcan con diferentes fluorocromos que se agitan con un rayo láser de un citómetro de flujo durante la adquisición de una muestra de sangre teñida con anticuerpos. El instrumento recolecta y analiza la fluorescencia subsiguiente (emisión de luz) de cada fluorocromo presente en un glóbulo adquirido. La intensidad de la fluorescencia es directamente proporcional a la densidad de extracción del antígeno en una célula, lo que permite la separación de diferentes subconjuntos de células.

### **4. Reactivo(s) suministrado(s)**

#### **Contenido**

El dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color es apropiado para 50 pruebas y se suministra con el siguiente reactivo:

**TBNK 6-color ED7736-1** (10 bolsas). Cada bolsa consta de 5 tubos de un solo uso con tapa que contienen una combinación mezclada previamente de reactivos marcados con fluorocromo y que se secaron con los ingredientes estabilizadores como una capa en el fondo de los tubos de ensayo (12×75 mm), consulte la tabla 1.

**Juego de compensación ED7736-2 de TBNK 6-color** (1 bolsa) que contiene 6 tubos de un solo uso con tapa, cada uno con un solo reactivo marcado con fluorocromo (consulte la tabla 1) y que se secó con los ingredientes estabilizadores como una capa en el fondo del tubo (12×75 mm).

**PRECAUCIÓN:** El juego de compensación de TBNK 6-color está diseñado solo para la configuración de compensación. Los reactivos marcados con un solo fluorocromo (consulte la tabla 1) permiten un procedimiento de compensación fácil y preciso.

## Composición

**Tabla 1** Descripción de los ingredientes activos de TBNK 6-color

Antígeno	Fluorocromo	Clon	Isotipo
CD3	FITC	UCHT1	IgG1
CD16	PE	3G8	IgG1
CD56	PE	LT56	IgG2a
CD45	PerCP-Cy™5.5	MEM-28	IgG1
CD4	PE-Cy™7	MEM-241	IgG1
CD19	APC	LT19	IgG1
CD8	APC-Cy™7	LT8	IgG1

## 5. Materiales necesarios pero no proporcionados

Solución de lisis de eritrocitos EXCELLYSE Easy, cat. N.º ED7066

Células de control de procesos (Streck CD-Chex Plus®, cat. N.º 213323 o control de células lisables equivalente)

Solución salina tamponada con fosfato (1X PBS), pH 7.2 – 7.4

## 6. Equipamiento necesario

Pipeta automática con puntas desechables (20 – 100 µl) para pipetear muestras

Dispensador de líquido o pipeta con puntas desechables (0.5 – 2 ml) para dispensar solución de lisis de eritrocitos

Dispensador de líquido o pipeta con puntas desechables (0.2 – 0.5 ml) para dispensar PBS

Mezclador vórtex

Centrifugadora con adaptadores de rotor adecuados para tubos de fondo redondo de 12×75 mm

Analizador de hematología (para cifras absolutas de glóbulos) que pueda realizar conteos de glóbulos blancos (WBC) y linfocitos por µl de muestra.

Citómetro de flujo con dos fuentes de agitación láser (488 nm y ~635 nm), detectores de luz dispersa, filtros ópticos y detectores de emisión adecuados para recolectar las señales de los fluorocromos que se proporcionan en la tabla 2.

**Tabla 2** Característica espectral del uso de fluorocromos en el dispositivo

Fluorocromo	Agitación [nm]	Emisión [nm]
FITC	488	525
PE	488	576
PerCP-Cy™5.5	488	695
PE-Cy™7	488	780
APC	630 – 640	660
APC-Cy™7	630 - 640	780

**AVISO:** El dispositivo se probó en citómetros de flujo BD FACSCanto™ II (BD Biosciences), DxFLX (Beckman Coulter) y Sysmex XF-1600™ (Sysmex Corporation).

## 7. Almacenamiento y manipulación

Almacenar a 20 – 30 °C.

Evitar la exposición prolongada a la luz.

Mantener seco.

**PRECAUCIÓN:** Producto sensible a la humedad. No abra la bolsa de aluminio hasta el primer uso.



Después de la primera apertura, vuelva a sellar completamente la bolsa de aluminio con la cremallera para almacenar los tubos sin usar restantes.

Consulte la Sección 10 Procedimiento (Preparación del reactivo) para obtener información sobre la estabilidad en uso y la vida útil tras la primera apertura, junto con las condiciones de almacenamiento y la estabilidad de las soluciones de trabajo (si procede).

## 8. Advertencias, precauciones y limitaciones de uso

### Clasificación de peligrosidad del SGA

Consulte la Ficha de Datos de Seguridad (FDS) disponible en la página del producto en [www.exbio.cz](http://www.exbio.cz) para obtener toda la información sobre los riesgos que plantean las sustancias y mezclas químicas contenidas en el Producto y cómo deben manipularse y eliminarse

### Peligro biológico

Las muestras biológicas humanas y los especímenes sanguíneos, así como cualquier material que entre en contacto con ellos, se consideran siempre

materiales infecciosos.

Utilizar equipo de protección personal y de seguridad para evitar el contacto con la piel, los ojos y las mucosas.

Siga todas las leyes, reglamentos y procedimientos aplicables para la manipulación y eliminación de materiales infecciosos.

### **Pruebas de deterioro**

La apariencia normal del reactivo proporcionado es una capa seca transparente en el fondo del tubo. No use el reactivo si observa algún cambio en la apariencia, por ejemplo, presencia de humedad en el interior del tubo.

### **Limitación de uso**

No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del producto.

No reutilice los tubos de ensayo.

## **9. Muestra**

Utilice sangre venosa periférica recolectada en un receptáculo para muestras clasificado como dispositivo médico, con el anticoagulante EDTA.

**AVISO:** Determine la cifra absoluta de WBC y la de linfocitos en la muestra de sangre recolectada mediante un analizador de hematología. El dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color por sí solo no enumera las cifras absolutas de glóbulos.

Las muestras de sangre con una cifra de WBC superior a  $40 \times 10^3$  células/ $\mu$ l requerirán una dilución con 1X PBS antes del procesamiento de la muestra.

Procese la muestra de sangre a más tardar 24 horas después de la recolección.

Conservar la muestra a temperatura de laboratorio (20 °C - 25°C). No refrigere la muestra.

### **Interferencias endógenas**

En la Tabla 3 se identifican las fuentes de interferencia endógenas basándose en la investigación bibliográfica.

**Tabla 3** Interferencias endógenas del aparato

Interferencias endógenas	Impacto	Referencia
Albúmina	La albúmina puede interferir en altas concentraciones debido a su capacidad para unirse, así como para liberar grandes cantidades de ligandos.	18, 19, 35
Bilirrubina	La bilirrubina puede aumentar el fondo de	22, 24, 28

(ictericia) (no conjugado)	fluorescencia de las células debido a su elevada autofluorescencia.	
Restos celulares (después de la lisis)	Los restos celulares pueden proporcionar recuentos celulares inexactos y agotar el anticuerpo dentro del dispositivo.	21, 25
Eritrocitos	Una lisis insuficiente, los glóbulos rojos presentes en la muestra pueden dar lugar a un recuento celular erróneo.	26
Hemoglobina	Las muestras hemolizadas pueden dar resultados erróneos.	23
Anticuerpos antimurinos humanos	El tratamiento con anticuerpos monoclonales puede dar resultados erróneos (capacidad de unión a antígenos de la superficie celular).	20, 30, 31, 32, 33, 34
Inmunoglobulinas	No puede lavarse con el método de plataforma única y puede dar lugar a un recuento erróneo de subconjuntos de linfocitos.	21
Factores reumatoides	La presencia de RF interfiere con los inmunoensayos multiplex (MIA).	27
Triglicéridos	Los niveles circulantes elevados de lípidos pueden afectar al análisis por citometría de flujo de determinadas poblaciones de células sanguíneas.	29

### **Interferencias exógenas**

Las muestras de más de 24 horas pueden dar resultados erróneos.

Las muestras refrigeradas pueden dar resultados erróneos.

Preparación incorrecta de la solución de lisis eritrocitaria (EXCELLYSE Easy, EXBIO Praha, a.s., Cat. N.º ED7066 o CyLyse™ FX, Sysmex Partec GmbH, Cat. BD303500) puede dar resultados erróneos. Siga las instrucciones del fabricante para el uso de la solución de lisis eritrocitaria.

## **10. Procedimiento**

### **Preparación de reactivo(s) suministrado(s)**

#### TBNK 6-color

No es necesaria la preparación del reactivo, se suministra en tubos de ensayo de un solo uso.

**PRECAUCIÓN:** Producto sensible a la humedad. No abra la bolsa de aluminio hasta el primer uso.



Cada bolsa consta de 5 tubos con tapa de TBNK 6-color de un solo uso. Después de cada apertura, vuelva a sellar completamente la bolsa de aluminio con la cremallera para almacenar los tubos sin usar restantes.

Después de la primera apertura, use los tubos TBNK 6-color restantes en un plazo de 30 días.

### **Se necesita la preparación de materiales, pero no se proveen**

Diluya la solución de lisis de eritrocitos concentrada con agua desionizada de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La solución de lisis de eritrocitos diluida (1X) se mantiene estable durante 1 mes cuando se almacena en un dispensador de líquidos o en un recipiente cerrado a temperatura ambiente.

### **Procedimiento de compensación**

Tome los tubos del conjunto de compensación utilizando el mismo procedimiento que para el citómetro de flujo antes del análisis de los tubos teñidos con TBNK 6-color.

**PRECAUCIÓN:** Tanto TBNK 6-color como el conjunto de compensación TBNK 6-color requieren el mismo tipo de muestra.

#### Tubos de compensación TBNK 6-color

1. Pipetee 50  $\mu$ l de muestra de sangre bien mezclada en el fondo de cada tubo de compensación de un solo color.
2. Mezcle vigorosamente durante 7 a 10 segundos e incube durante 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
3. Agregue 1 ml de solución de lisis de eritrocitos (1X) diluida a cada tubo de compensación.
4. Mezcle e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
5. Centrifugue durante 5 minutos a 300  $\times$ g, deseche el sobrenadante y resuspenda las células sedimentadas en 0.2 ml de 1X PBS.
6. Establezca los voltajes en los detectores de fluorescencia de interés antes del análisis de la muestra teñida. El voltaje en un detector de PMT debe configurarse lo suficientemente alto como para minimizar los incidentes de teñidos negativos que interfieren en el canal 0 en el eje de fluorescencia. Además, el voltaje del detector de PMT no debe exceder los valores en los que los eventos positivos se presionan hacia el eje derecho.
7. Tome la muestra teñida inmediatamente con el citómetro de flujo.

Compense las señales de fluorescencia entre los detectores antes o después de la



adquisición de datos. Los datos pueden interpretarse de manera incorrecta si las señales de fluorescencia no se compensan bien o si las ventanas de adquisición se colocan mal.

Configure las ventanas de adquisición para poblaciones positivas y negativas para cada tubo de compensación de acuerdo con la figura 1.

Calcule la matriz de compensación en el software del citómetro desarrollado por el fabricante o en el software exclusivo para el análisis de datos de citometría fuera de línea. Use esta matriz de compensación para todos los tubos de ensayo de este lote de TBNK 6-color.

**PRECAUCIÓN:** Una vez que haya hecho la configuración para el lote de TBNK 6-color específico, no cambie la configuración de los detectores fluorescentes a fin de conservar la misma configuración de adquisición de la matriz de compensación y los mismos resultados de compensación.

### **Control de calidad**

Use Streck CD-Chex Plus® o sangre estabilizada equivalente como control de procedimiento positivo para garantizar el rendimiento adecuado del dispositivo según lo previsto. Streck CD-Chex Plus® proporciona valores establecidos para porcentajes positivos y cifras absolutas de linfocitos T, linfocitos B, granulocitos, monocitos y linfocitos T citotóxicos, incluidos dos niveles clínicamente relevantes de linfocitos CD4+.

Tiña las células de control con el tubo de ensayo TBNK 6-color de acuerdo con el procesamiento de la muestra como se especifica en las instrucciones de uso. Verifique que los resultados obtenidos (% de células positivas) estén dentro del rango esperado que se informó para el lote usado de células de control.

### **Tinción de muestras**

1. Etiquete el tubo TBNK 6-color con la identificación de muestra adecuada.
2. Pipetee 50 µl de muestra de sangre bien mezclada en el fondo del tubo TBNK 6-color.

**PRECAUCIÓN:** Evite pipetear sangre en el costado del tubo de ensayo. Si quedan gotas o manchas de sangre en el costado del tubo, es posible que no se tiñan con el reactivo o que los eritrocitos no se lisen y que el resultado de la prueba sea inválido.

3. Mezcle vigorosamente durante 7 a 10 segundos e incube el tubo de ensayo durante 20 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.

**PRECAUCIÓN:** Acortar el tiempo de mezcla puede afectar los resultados de la prueba.

4. Agregue 1 ml de solución de lisis de eritrocitos (1X) diluida en el tubo TBNK 6-color.
5. Mezcle e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
6. Centrifugue el tubo TBNK 6-color durante 5 minutos a 300 ×g.
7. Deseche el sobrenadante sin alterar el sedimento celular y agregue 0.2 ml de 1X PBS al tubo de ensayo.
8. Mezcle brevemente para resuspender las células sedimentadas.
9. Tome la muestra teñida con el citómetro de flujo. Si la muestra teñida no se tomará inmediatamente, almacene a 2 – 8 °C en la oscuridad y analícela en un plazo de 24 horas.

**PRECAUCIÓN:** Mezcle la muestra teñida inmediatamente antes de la toma en el citómetro de flujo para evitar aglomeraciones.

### **Análisis por citometría de flujo**

El citómetro de flujo seleccionado para su uso con el dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color se calibrará de forma rutinaria utilizando microperlas fluorescentes para garantizar una sensibilidad estable de los detectores de acuerdo con las instrucciones del fabricante del citómetro.

Si no se mantiene adecuadamente, el citómetro de flujo puede producir resultados falsos.

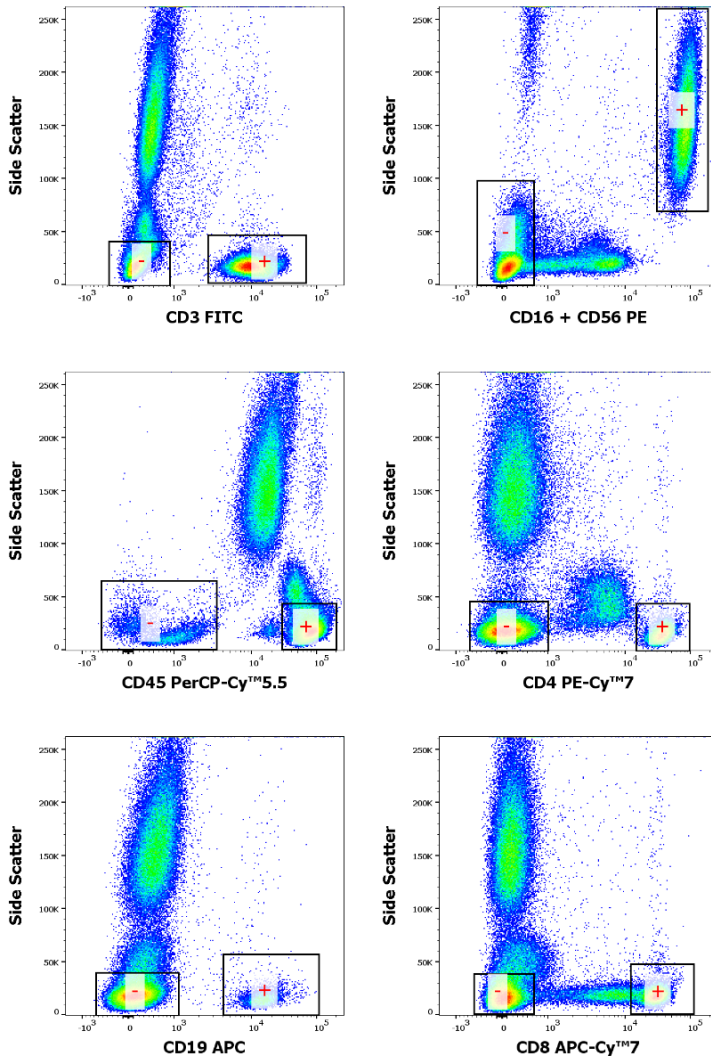
Consulte las especificaciones del fabricante del citómetro para láseres y detectores de fluorescencia según las características de excitación y emisión de los fluorocromos en la Sección 6 Equipo necesario.

Para el análisis de datos medidos, es posible utilizar software de citómetro desarrollado por el fabricante, o software dedicado para el análisis de datos de citometría fuera de línea (por ejemplo FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

## Análisis de los tubos de compensación

Visualice los datos no compensados para cada tubo de compensación en un diagrama de dispersión lateral (SSC) en comparación con el “fluorocromo que se compensará”. Establezca las ventanas para las poblaciones de linfocitos positiva (+) y negativa (-), como se muestra en la figura 1.

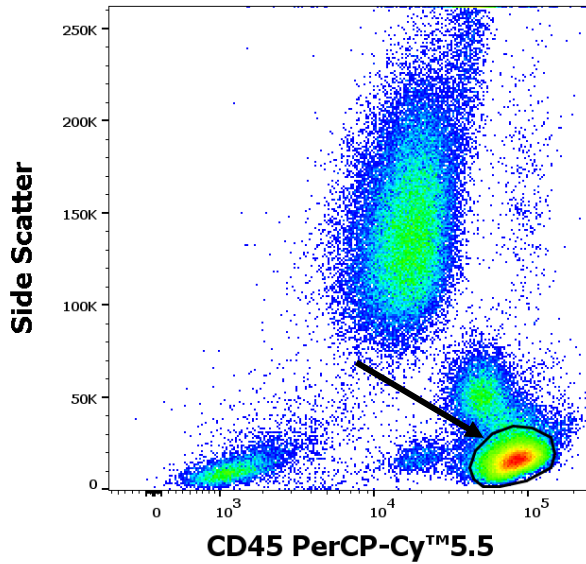
**Figura 1** Identificación de eventos positivos (+) y negativos (-) en tubos de compensación (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



## Análisis de la muestra teñida de TBNK 6-color

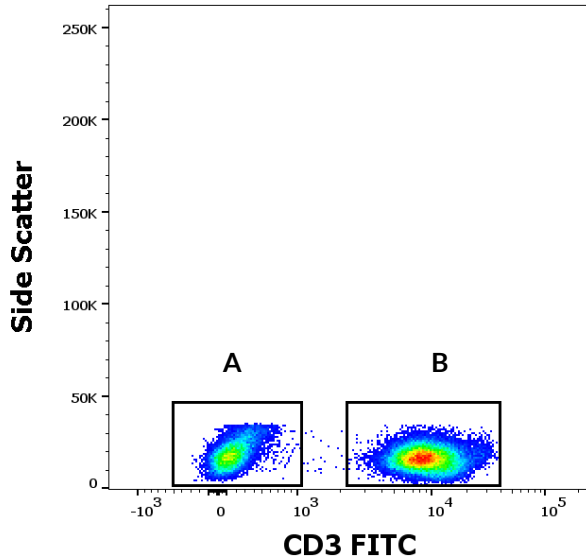
Visualice los datos compensados en un diagrama de dispersión lateral (SSC) frente al diagrama de CD45 PerCP-Cy™5.5. Establezca la ventana para la población de linfocitos CD45+ como se muestra en la figura 2.

**Figura 2** Delineación de la población de linfocitos CD45+ (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



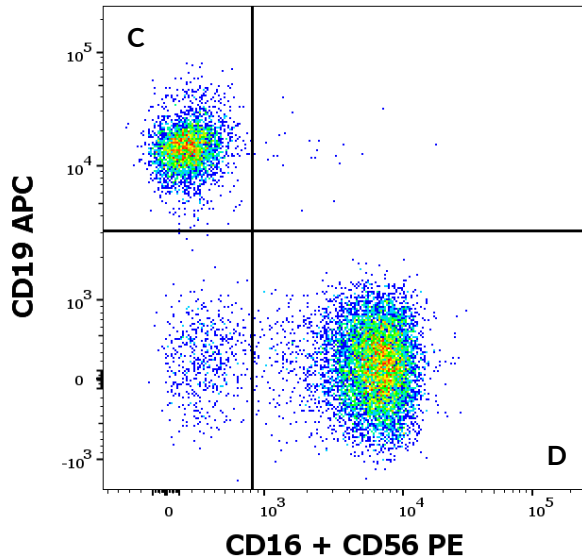
Trace los linfocitos CD45+ controlados en un diagrama de dispersión lateral (SSC) frente a un diagrama de CD3 FITC como se muestra en la figura 3. Separe los linfocitos CD3+ y CD3- utilizando las ventanas de dispersión adecuadas. Calcule el porcentaje de linfocitos T (CD3+; región B de la figura 3) de todos los linfocitos.

**Figura 3** Separación de linfocitos CD3+ y CD3- (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



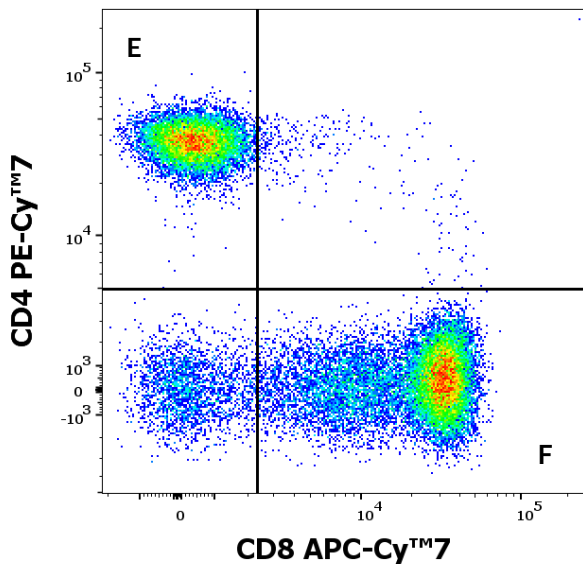
Trace los linfocitos CD3- seleccionados (región A de la figura 3) como CD19 APC frente a CD16+CD56 PE como se muestra en la figura 4. Establezca las ventanas adecuadas y calcule el porcentaje de linfocitos B (CD16-CD56-CD19+; región C de la figura 4) y los linfocitos T citotóxicos (NK) (CD16+CD56+CD19-; región D de la figura 4) de todos los linfocitos.

**Figura 4** Linfocitos CD3- en un gráfico de puntos CD19 APC frente a CD16+CD56 PE (datos adquiridos en BD FACSCanto™ II)



Trace los linfocitos T seleccionados (CD3+; región B de la figura 3) como CD4 PE-Cy<sup>TM</sup>7 frente a CD8 APC-Cy<sup>TM</sup>7 como se muestra en la figura 5. Establezca las ventanas adecuadas y calcule el porcentaje de linfocitos T cooperadores/auxiliares (CD4+CD8-; región E de la figura 5) y los linfocitos T supresores/citotóxicos (CD4-CD8+; región F de la figura 5) de todos los linfocitos.

**Figura 5** Linfocitos CD3+ en un gráfico de puntos CD4 PE-Cy<sup>TM</sup>7 frente a CD8 APC-Cy<sup>TM</sup>7 (datos adquiridos en BD FACSCanto<sup>TM</sup> II)



### Cálculo e interpretación de los resultados analíticos

Para obtener cifras absolutas, use la cifra absoluta de linfocitos determinada mediante analizador de hematología. Consulte las instrucciones del fabricante del analizador de hematología. Utilice las siguientes ecuaciones para la enumeración de la cifra absoluta del subconjunto de linfocitos necesario.

$$A \times \frac{B (\%)}{100 (\%)} = \text{Cifra absoluta de subconjunto de linfocitos}$$

A = cifra absoluta de linfocitos (datos del analizador de hematología; linfocitos/ $\mu$ l)

B = porcentajes relativos del subconjunto de linfocitos necesario de todos los linfocitos (datos del citómetro de flujo; %)

# 11. Rendimiento analítico

## Especificidad

El anticuerpo UCHT1 reconoce un epítipo extracelular en el antígeno CD3 del complejo TCR/CD3 en linfocitos T humanos maduros. El anticuerpo UCHT1 reacciona con la cadena  $\epsilon$  del complejo CD3. La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (talleres HLDA I<sup>(2)</sup>, HLDA III<sup>(12)</sup> y HLDA VI<sup>(7)</sup>).

El anticuerpo MEM-241 reconoce el antígeno CD4 humano (glucoproteína de superficie de linfocitos T CD4). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA VIII).

El anticuerpo LT8 reconoce el antígeno CD8 humano (dímero unido por disulfuro expresado como dos homodímeros de cadena  $\alpha$  CD8 o heterodímeros de cadena  $\alpha/\beta$  CD8). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por los talleres HLDA (taller HLDA V<sup>(18)</sup> y taller HLDA VII<sup>(10)</sup>).

El anticuerpo 3G8 reconoce el antígeno CD16 humano (receptor Fc $\gamma$  de tipo III de inmunoglobulina de baja afinidad). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por el taller HLDA (taller HLDA V<sup>(18)</sup>).

El anticuerpo LT56 reconoce la isoforma leucocitaria del antígeno CD56 humano (molécula de adhesión de células neurales 1). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA X).

El anticuerpo LT19 reconoce el antígeno CD19 humano (glucoproteína de superficie de linfocitos B CD19). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por HCDM Council (taller HLDA X).

El anticuerpo MEM-28 reconoce todas las isoformas leucocitarias del CD45 humano (receptor de proteína tirosina fosfatasa tipo C). La especificidad del anticuerpo ha sido confirmada por el taller HLDA (taller HLDA III<sup>(12)</sup>).

## Exactitud

La precisión del método se midió en el citómetro de flujo BD FACSCanto™ II y se determinó comparando el dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color con un producto similar disponible en el mercado KOMBITEST TBNK 6-color (Cat. N.º ED7733) mediante tinción paralela de 118 donantes de sangre sanos.

En los citómetros de flujo Beckman Coulter DxFLEx y Sysmex XF-1600™, la precisión del método se determinó comparando los resultados del análisis de las mismas muestras de sangre teñidas con el dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color en los citómetros de flujo BC DxFLEx y BD FACSCanto™ II (92 donantes sanos) respectivamente y en los citómetros de flujo Sysmex XF-1600™ y BD FACSCanto™ II (71 donantes sanos). La precisión del método se ha visto corroborada por la tinción paralela de 46 pacientes (véase las Tablas 7) sospechosos de padecer una afección patológica del sistema inmunitario.

Los parámetros del análisis de regresión lineal figuran en las Tablas 4 - 7.



**Tabla 4** Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en donantes de sangre sanos (comparación del dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color con el producto IVD, KOMBITEST TBNK 6-color [EXBIO, cat. N.º ED7733])

Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Pendiente	Intersección	R <sup>2</sup>	Intervalo
CD3+	%	118	0.9850	+0.0054	0.9696	58.50 - 88.20
	linfocitos/μl	118	0.9993	-9.0904	0.9958	739 - 2492
CD3+CD8+	%	118	1.0618	-0.006	0.9858	6.40 - 47.90
	linfocitos/μl	118	1.0497	-6.1323	0.9910	132 - 947
CD3+CD4+	%	118	1.0067	-0.0015	0.9786	26.00 - 60.60
	linfocitos/μl	118	1.0191	-12.603	0.9936	410 - 1717
CD3- CD16+CD56+	%	118	0.9956	-0.0023	0.9851	4.64 - 33.80
	linfocitos/μl	118	0.9943	-3.9727	0.9848	89 - 593
CD3-CD19+	%	118	0.9885	-0.0015	0.9794	2.60 - 22.70
	linfocitos/μl	118	0.9790	-0.9509	0.9880	56 - 608

n = número de muestras de sangre

**Tabla 5** Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en donantes de sangre sanos (comparación de ED7736 en BD FACSCanto™ II con ED7736 en BC DxFLEX)

Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Pendiente	Intersección	R <sup>2</sup>	Intervalo
CD3+	%	92	0.9839	0.0106	0.9823	55.00 - 84.90
	linfocitos/μl	92	0.9992	-0.0833	0.9985	408 - 2525
CD3+CD8+	%	92	1.0187	-0.0051	0.9864	6.25 - 45.40
	linfocitos/μl	92	1.0083	-5.1608	0.9930	130 - 1182
CD3+CD4+	%	92	0.9872	0.0017	0.9935	12.10 - 63.10
	linfocitos/μl	92	0.9869	3.4994	0.9975	108 - 1739
CD3- CD16+CD56+	%	92	0.9857	0.0022	0.9904	4.96 - 32.70
	linfocitos/μl	92	0.9784	5.7585	0.9921	96 - 676
CD3-CD19+	%	92	0.9992	-0.0002	0.9900	3.23 - 21.60
	linfocitos/μl	92	1.0031	-1.0160	0.9916	58 - 418

n = número de muestras de sangre

**Tabla 6** Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en donantes de sangre sanos (comparación de ED7736 en BD FACSCanto™ II con ED7736 en Sysmex XF-1600™)

Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Pendiente	Intersección	R <sup>2</sup>	Intervalo
CD3+	%	71	0.9942	0.0051	0.9853	53.40 - 85.30
	linfocitos/ $\mu$ l	71	1.0101	-10.313	0.9990	396 - 2440
CD3+CD8+	%	71	0.9718	0.00006	0.9878	11.30 - 47.90
	linfocitos/ $\mu$ l	71	0.9646	2.6825	0.9938	121 - 1111
CD3+CD4+	%	71	0.9885	0.0077	0.9955	13.50 - 63.50
	linfocitos/ $\mu$ l	71	1.0178	-7.2726	0.9972	114 - 1452
CD3- CD16+CD56+	%	71	0.9905	0.0033	0.9915	5.71 - 33.60
	linfocitos/ $\mu$ l	71	0.9789	8.4040	0.9951	102 - 676
CD3-CD19+	%	71	0.9149	0.0009	0.9652	5.11 - 19.20
	linfocitos/ $\mu$ l	71	0.9128	1.8844	0.9780	53 - 386

n = número de muestras de sangre

**Tabla 7** Análisis de regresión lineal para subconjuntos de linfocitos en pacientes con sospecha de condiciones patológicas del sistema inmunitario (comparación del dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color con el sistema de citometría de flujo AQUIOS CL, Beckman Coulter, Inc.)

Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Pendiente	Intersección	R <sup>2</sup>	Intervalo
CD3+	%	46	1.0027	-0.6999	0.98	55.1 - 87.6
	linfocitos/ $\mu$ l	46	0.9805	17.223	1.00	620 - 2710
CD3+CD8+	%	46	1.0033	0.7307	0.94	8.1 - 39.8
	linfocitos/ $\mu$ l	46	1.0595	4.148	0.97	84 - 1130
CD3+CD4+	%	46	1.018	-0.9716	0.97	24.4 - 68.2
	linfocitos/ $\mu$ l	46	0.9884	6.4727	0.99	494 - 1619
CD3- CD16+CD56+	%	46	1.0469	-0.5117	0.98	3.3 - 35.2
	linfocitos/ $\mu$ l	46	1.0543	-11.577	0.99	74 - 1070
CD3-CD19+	%	46	1.0213	0.1708	0.96	4.3 - 33.6
	linfocitos/ $\mu$ l	46	1.036	-0.1163	0.98	62 - 958

## Linealidad

La linealidad del método se verificó en 10 diluciones en serie de una muestra de sangre enriquecida con leucocitos (capa leucoplaquetaria). Las muestras de células se tiñeron con DryFlowEx TBNK 6-color en hexaplicados. Las muestras se analizaron utilizando citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx y Sysmex XF-1600™. Se observó que los datos medidos para los subconjuntos de linfocitos indicados eran lineales en todo el intervalo de linfocitos, 87-7031 linfocitos/ $\mu$ l utilizando BD FACSCanto™ II, 85-6698 células/ $\mu$ l utilizando Beckman Coulter DxFLEx y 175 - 14799 linfocitos/ $\mu$ l utilizando Sysmex XF-1600™. Los subconjuntos celulares se encontraban en los rangos que figuran en las Tablas 8 - 10.

**Tabla 8** Intervalos lineales de subconjuntos de linfocitos analizados mediante BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II	
Subconjunto de linfocitos	Intervalo (linfocitos/ $\mu$ l)
CD3+	79 - 6427
CD3+CD8+	16 - 1271
CD3+CD4+	57 - 4749
CD3-CD16+CD56+	15 - 1198
CD3-CD19+	8 - 722

**Tabla 9** Intervalos lineales de subconjuntos de linfocitos analizados mediante Beckman Coulter DxFLEx

Beckman Coulter DxFLEx	
Subconjunto de linfocitos	Intervalo (linfocitos/ $\mu$ l)
CD3+	79 - 6251
CD3+CD8+	16 - 1274
CD3+CD4+	57 - 4583
CD3-CD16+CD56+	15 - 1276
CD3-CD19+	8 - 704

**Tabla 10** Intervalos lineales de subconjuntos de linfocitos analizados mediante Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™	
Subconjunto de linfocitos	Intervalo (linfocitos/ $\mu$ l)
CD3+	128 - 10391
CD3+CD8+	53 - 4117
CD3+CD4+	67 - 5421
CD3-CD16+CD56+	32 - 2681
CD3-CD19+	14 - 1090

### Límite de detección / Límite de cuantificación / Límite de ensayo

Los datos de linealidad se utilizaron para establecer el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ).

El límite de detección se ha establecido como el valor más bajo de recuento celular absoluto distinto de cero más  $3 \times SD$  (desviación estándar) para cada subconjunto de linfocitos (véase las Tablas 11 - 13).

El límite de cuantificación se ha establecido como el valor más bajo en el intervalo de linealidad de las concentraciones de analito presentadas como recuento absoluto del subconjunto de linfocitos, en el que el CV de los hexaplicados no superó el 10 % y la recuperación estuvo en el intervalo de 90 % - 110 % (véase las Tablas 11 - 13).

Los resultados del ensayo no son diagnósticos únicos para una única entidad clínica, por lo que no se puede estimar el punto de corte del ensayo.

**Tabla 11** Límites de detección y cuantificación en BD FACSCanto™ II

BD FACSCanto™ II				
Subgrupo de linfocitos	Recuento celular más bajo distinto de cero (células/ $\mu$ l)	$3 \times SD$ (SD)	LOD (células/ $\mu$ l)	LOQ (células/ $\mu$ l)
CD3+	1	0.6 (0.2)	1.6	3
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3+CD4+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3-CD16+CD56+	2	0.9 (0.3)	2.9	5
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	8

**Tabla 12** Límites de detección y cuantificación en Beckman Coulter DxFLEx

<b>Beckman Coulter DxFLEx</b>				
<b>Subgrupo de linfocitos</b>	<b>Recuento celular más bajo distinto de cero (células/<math>\mu</math>l)</b>	<b>3<math>\times</math>SD (SD)</b>	<b>LOD (células/<math>\mu</math>l)</b>	<b>LOQ (células/<math>\mu</math>l)</b>
CD3+	1	0.3 (0.1)	1.3	3
CD3+CD8+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3+CD4+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3-CD16+CD56+	1	0.3 (0.1)	1.3	2
CD3-CD19+	1	0.6 (0.2)	1.6	8

**Tabla 13** Límites de detección y cuantificación en Sysmex XF-1600™

<b>Sysmex XF-1600™</b>				
<b>Subgrupo de linfocitos</b>	<b>Recuento celular más bajo distinto de cero (células/<math>\mu</math>l)</b>	<b>3<math>\times</math>SD (SD)</b>	<b>LOD (células/<math>\mu</math>l)</b>	<b>LOQ (células/<math>\mu</math>l)</b>
CD3+	2	0.3 (0.1)	2.3	2
CD3+CD8+	1	0.6 (0.2)	1.6	2
CD3+CD4+	1	0.6 (0.2)	1.6	8
CD3-CD16+CD56+	1	0.6 (0.2)	1.6	11
CD3-CD19+	1	0.3 (0.1)	1.3	14

### **Repetibilidad**

La repetibilidad de la prueba se midió en diez muestras de sangre en hexaplicados. Las muestras se analizaron utilizando citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFLEx y Sysmex XF-1600™. Los coeficientes de variación (CV) figuran en los cuadros siguientes (Tablas 14 - 16).

**Tabla 14** Repetibilidad del dispositivo en BD FACSCanto™ II

<b>BD FACSCanto™ II</b>					
Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Promedio	SD	% CV
CD3+	%	10	72.15	0.27	0.38
	linfocitos/ $\mu$ l	10	1454	4.9	
CD3+CD8+	%	10	21.05	0.24	1.18
	linfocitos/ $\mu$ l	10	434	4.8	
CD3+CD4+	%	10	46.68	0.28	0.61
	linfocitos/ $\mu$ l	10	932	5.1	
CD3-CD16+CD56+	%	10	15.38	0.19	1.28
	linfocitos/ $\mu$ l	10	294	3.6	
CD3-CD19+	%	10	11.45	0.15	1.34
	linfocitos/ $\mu$ l	10	217	2.7	

**Tabla 15** Repetibilidad del dispositivo en Beckman Coulter DxFLEx

<b>Beckman Coulter DxFLEx</b>					
Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Promedio	SD	% CV
CD3+	%	10	70.90	0,34	0.48
	linfocitos/ $\mu$ l	10	1429	6.3	
CD3+CD8+	%	10	20.33	0.33	1.33
	linfocitos/ $\mu$ l	10	418	5.3	
CD3+CD4+	%	10	45.60	0.27	0.72
	linfocitos/ $\mu$ l	10	911	6.3	
CD3-CD16+CD56+	%	10	16.13	0.25	1.61
	linfocitos/ $\mu$ l	10	308	5.0	
CD3-CD19+	%	10	11.24	0.18	1.69
	linfocitos/ $\mu$ l	10	213	3.3	

**Tabla 16** Repetibilidad del dispositivo en Sysmex XF-1600™

Sysmex XF-1600™					
Subconjunto de linfocitos	Unidad	n	Promedio	SD	% CV
CD3+	%	10	65.29	1.23	2.22
	linfocitos/ $\mu$ l	10	1090	20.6	
CD3+CD8+	%	10	22.34	0.41	2.30
	linfocitos/ $\mu$ l	10	377	6.90	
CD3+CD4+	%	10	38.12	0.98	2.77
	linfocitos/ $\mu$ l	10	633	16.30	
CD3-CD16+CD56+	%	10	20.92	0.78	3.12
	linfocitos/ $\mu$ l	10	354	13.10	
CD3-CD19+	%	10	11.96	0.44	3.81
	linfocitos/ $\mu$ l	10	193	7.10	

### Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo en BD FACSCanto™ II y Beckman Coulter DxFLEx se midió con 2 muestras de sangre estabilizada (CD-Chex Plus® y CD-Chex Plus® CD4 Low de STRECK). La reproducibilidad del ensayo en el Sysmex XF-1600™ se midió en 4 muestras de sangre estabilizadas (CD-Chex Plus® y CD-Chex Plus® CD4 Low e IMMUNO-TROL Low Cells e IMMUNO-TROL Cells de Beckman Coulter además). Las muestras se midieron en las mismas condiciones durante 15 días utilizando 3 lotes del dispositivo (5 días cada uno). Los coeficientes de variación (CV) figuran en los cuadros siguientes (Tablas 17 - 19).

**Tabla 17** Reproducibilidad del dispositivo en BD FACSCanto™ II

Subconjunto de linfocitos	Material	Unidad	Promedio	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	82.07	0.40	0.49
		linfocitos/ $\mu$ l	1659	8.1	0.49
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67.87	0.60	0.89
		linfocitos/ $\mu$ l	917	8.1	0.89
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	25.67	0.43	1.66
		linfocitos/ $\mu$ l	519	8.6	1.66
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	47.23	0.80	1.69
		linfocitos/ $\mu$ l	638	10.8	1.69
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	47.20	0.51	1.08
		linfocitos/ $\mu$ l	954	10.3	1.08
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9.56	0.18	1.85
		linfocitos/ $\mu$ l	129	2.4	1.85
CD3-CD16+CD56+	CD-Chex Plus®	%	9.51	0.27	2.87
		linfocitos/ $\mu$ l	192	5.5	2.87
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.00	0.49	2.89
		linfocitos/ $\mu$ l	230	6.6	2.89
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7.89	0.17	2.18
		linfocitos/ $\mu$ l	158	3.4	2.18
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14.10	0.18	1.29
		linfocitos/ $\mu$ l	190	2.5	1.29



**Tabla 18** Reproducibilidad del dispositivo en Beckman Coulter DxFLEx

Subconjunto de linfocitos	Material	Unidad	Promedio	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	81.58	0.35	0.43
		linfocitos/ $\mu$ l	1649	7.2	0.43
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	67.57	0.32	0.48
		linfocitos/ $\mu$ l	913	4.3	0.48
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	26.57	0.31	1.17
		linfocitos/ $\mu$ l	537	6.3	1.17
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	48.73	0.41	0.85
		linfocitos/ $\mu$ l	658	5.6	0.85
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	45.43	0.53	1.17
		linfocitos/ $\mu$ l	918	10.8	1.17
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	9.17	0.25	2.73
		linfocitos/ $\mu$ l	124	3.4	2.73
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	9.77	0.15	1.56
		linfocitos/ $\mu$ l	197	3.1	1.56
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	17.21	0.23	1.35
		linfocitos/ $\mu$ l	232	3.1	1.35
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	7.99	0.33	4.10
		linfocitos/ $\mu$ l	161	6.6	4.10
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	14.18	0.23	1.63
		linfocitos/ $\mu$ l	192	3.1	1.63

**Tabla 19** Reproducibilidad del dispositivo en Sysmex XF-1600™

Subconjunto de linfocitos	Material	Unidad	Promedio	SD	% CV
CD3+	CD-Chex Plus®	%	80.58	0.41	0.51
		linfocitos/ $\mu$ l	1689	8.5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	64.19	0.71	1.10
		linfocitos/ $\mu$ l	866	9.6	
	IMMUNO-TROL Cells	%	73.47	0.39	0.53
		linfocitos/ $\mu$ l	930	4.9	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	56.03	0.71	1.26	
	linfocitos/ $\mu$ l	431	5.4		
CD3+CD8+	CD-Chex Plus®	%	23.43	0.60	2.54
		linfocitos/ $\mu$ l	490	12.5	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	43.78	0.99	2.26
		linfocitos/ $\mu$ l	591	13.3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	24.11	0.26	1.08
		linfocitos/ $\mu$ l	305	3.3	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	34.74	1.00	2.87	
	linfocitos/ $\mu$ l	267	7.7		
CD3+CD4+	CD-Chex Plus®	%	51.31	0.74	1.45
		linfocitos/ $\mu$ l	1073	15.6	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	12.14	0.84	6.92
		linfocitos/ $\mu$ l	164	11.3	
	IMMUNO-TROL Cells	%	45.17	0.51	1.14
		linfocitos/ $\mu$ l	572	6.5	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	15.83	0.36	2.28	
	linfocitos/ $\mu$ l	122	2.8		
CD3-CD16+ CD56+	CD-Chex Plus®	%	8.52	0.28	3.31
		linfocitos/ $\mu$ l	178	5.9	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	15.53	0.48	3.06
		linfocitos/ $\mu$ l	209	6.4	
	IMMUNO-TROL Cells	%	10.03	0.28	2.80
		linfocitos/ $\mu$ l	127	3.6	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	21.59	0.59	2.74	
	linfocitos/ $\mu$ l	166	4.6		
CD3-CD19+	CD-Chex Plus®	%	9.93	0.25	2.48
		linfocitos/ $\mu$ l	208	5.1	
	CD-Chex Plus® CD4 Low	%	18.70	0.31	1.63
		linfocitos/ $\mu$ l	252	4.1	
	IMMUNO-TROL Cells	%	13.03	0.34	2.58
		linfocitos/ $\mu$ l	165	4.3	
IMMUNO-TROL Low Cells	%	17.45	0.55	3.14	
	linfocitos/ $\mu$ l	134	4.2		

**AVISO:** Para el análisis de citometría de flujo se utilizaron los siguientes citómetros de flujo, incluida la versión de software:

BD FACSCanto™ II	BD FACSDiva Software – versión 8.0.2
Beckman Coulter DxFLEx	CytExpert for DxFLEx – versión 2.0.2.18
Sysmex XF-1600™	IPU Software – versión 0(0.09-00)

Para los recuentos celulares absolutos se utilizó el analizador de hematología con método de plataforma dual con las siguientes especificaciones:

Sysmex XN-1000™	IPU Software – versión 00-22(164)
-----------------	-----------------------------------

Para la evaluación de los datos medidos se utilizó la siguiente plataforma de análisis:

FlowJo™ (Becton, Dickinson and Company) – versión 10.9.0

## **12. Rendimiento clínico**

### **Pacientes con sospecha de tener afecciones patológicas del sistema inmunitario**

En un centro, se tomaron datos clínicos de 46 pacientes con sospecha de afecciones patológicas del sistema inmunitario. El rendimiento clínico se determinó mediante la comparación del dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color con un método de laboratorio clínico acreditado (sistema de citometría de flujo AQUIOS CL, Beckman Coulter, Inc.).

Se analizaron los resultados de la evaluación de inmunidad del paciente con respecto a la inmunodeficiencia (tabla 20).

**Tabla 20** Rendimiento clínico del dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color

		Inmunidad evaluada por método de laboratorio clínico acreditado	
		Afecciones patológicas del sistema inmunitario	Condición normal
Inmunidad evaluada mediante el dispositivo ED7736 DryFlowEx TBNK 6-color	Afecciones patológicas del sistema inmunitario	9 pacientes	0 pacientes
	Condición normal	0 pacientes	37 pacientes

### 13. Valores previstos

#### Intervalo de referencia

Los laboratorios deben establecer sus propios intervalos de referencia normales para los subconjuntos de linfocitos identificados mediante DryFlowEx TBNK 6-color a partir de la población local de donantes normales debido a las variaciones de valor relacionadas con la edad, el sexo, las características clínicas y el origen étnico

#### 14. Limitaciones

El dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color no tiene validación para su uso en muestras recolectadas con anticoagulantes de heparina o ácido citrato dextrosa (ACD) a fin de determinar cifras relativas y absolutas.

El dispositivo DryFlowEx TBNK 6-color no está diseñado para la detección o el fenotipado de muestras de leucemia y linfoma.

Las cifras absolutas no son comparables entre laboratorios que utilizan diferentes equipos de varios fabricantes.

## 15. Referencias

- 1) Bensussan, A et al. Significant enlargement of a specific subset of CD3+CD8+ peripheral blood leukocytes mediating cytotoxic T-lymphocyte activity during human immunodeficiency virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 15;90(20):9427-30. doi: 10.1073/pnas.90.20.9427.
- 2) Bernard, A et al. *Leucocyte Typing.* Springer, 1984.
- 3) Boldt, A et al. Eight-color immunophenotyping of T-, B-, and NK-cell subpopulations for characterization of chronic immunodeficiencies. *Cytometry B Clin Cytom* 2014 May;86(3):191-206. doi:10.1002/cyto.b.21162.
- 4) de Saint Basile, G et al. Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the delta or the epsilon subunit of CD3. *J Clin Invest.* 2004 Nov;114(10):1512-7. doi: 10.1172/JCI22588.
- 5) Giorgi, J V. Characterization of T lymphocyte subset alterations by flow cytometry in HIV disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1993 Mar 20;677:417-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.1993.tb38803.x.
- 6) Iwatani, Y et al. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells, and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. *Clin Exp Immunol.* 1992 Mar;87(3):444-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb03017.x.
- 7) Kishimoto, T et al. *Leucocyte Typing VI.* Garland Publishing, 1997.
- 8) Kucuksezer, U C et al. The Role of Natural Killer Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2021 Feb 25;12:622306. doi: 10.3389/fimmu.2021.622306.
- 9) Li, Y et al. AIDS prevention and control in the Yunnan region by T cell subset assessment. *PLoS One.* 2019 Apr 18;14(4):e0214800. doi: 10.1371/journal.pone.0214800.
- 10) Mason, D et al, eds.: *Leucocyte Typing VII: White Cell Differentiation Antigens: Proceedings of the Seventh International Workshop and Conference Held in Harrogate, United Kingdom: Oxford University Press; 2002.*
- 11) McCarty, B et al. Low Peripheral T Follicular Helper Cells in Perinatally HIV-Infected Children Correlate With Advancing HIV Disease. *Front Immunol.* 2018 Aug 24;9:1901. doi: 10.3389/fimmu.2018.01901.
- 12) McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: 54 White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1987.
- 13) Monafo, W J et al. A hereditary immunodeficiency characterized by CD8+ T lymphocyte deficiency and impaired lymphocyte activation. *Clin Exp Immunol.* 1992 Dec;90(3):390-3. doi: 10.1111/j.1365-2249.1992.tb05856.x.
- 14) North, M E et al. Primary defect in CD8+ lymphocytes in the antibody

- deficiency disease (common variable immunodeficiency): abnormalities in intracellular production of interferon-gamma (IFN-gamma) in CD28+ ('cytotoxic') and CD28- ('suppressor') CD8+ subsets. *Clin Exp Immunol.* 1998 Jan;111(1):70-5. doi: 10.1046/j.1365-2249.1998.00479.x.
- 15) Orange, J S. Natural killer cell deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Sep;132(3):515-525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020.
  - 16) Orange, J S. How I Manage Natural Killer Cell Deficiency. *J Clin Immunol.* 2020 Jan;40(1):13-23. doi: 10.1007/s10875-019-00711-7.
  - 17) Picat, M Q et al. T-cell activation discriminates subclasses of symptomatic primary humoral immunodeficiency diseases in adults. *BMC Immunol.* 2014 Mar 12;15:13. doi: 10.1186/1471-2172-15-13.
  - 18) Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, et al, eds.: *Leucocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens.* New York, NY: Oxford University Press; 1995.
  - 19) van Dongen, J J M et al. EuroFlow-Based Flowcytometric Diagnostic Screening and Classification of Primary Immunodeficiencies of the Lymphoid System. *Front Immunol.* 2019 Jun 13;10:1271. doi: 10.3389/fimmu.2019.01271.
  - 20) Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. *Clin Biochem Rev.* 2004 May;25(2):105-20. PMID: 18458713; PMCID: PMC1904417.
  - 21) Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem.* 1999 Nov; 36 ( Pt 6):704-21. doi: 10.1177/000456329903600603. PMID: 10586307.
  - 22) Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem.* 1999 Jul;45(7):942-56. Erratum in: *Clin Chem* 2000 Oct;46(10):1722. PMID: 10388468.
  - 23) Higgins J, Hill V, Lau K, Simpson V, Roayaei J, Klabansky R, Stevens RA, Metcalf JA, Baseler M. Evaluation of a single-platform technology for lymphocyte immunophenotyping. *Clin Vaccine Immunol.* 2007 Oct;14(10):1342-8. doi: 10.1128/CVI.00168-07. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761524; PMCID: PMC2168127.
  - 24) Htun NM, Chen YC, Lim B, et al. Near-infrared autofluorescence induced by intraplaque hemorrhage and heme degradation as marker for high-risk atherosclerotic plaques. *Nat Commun.* 2017;8(1):75. Published 2017 Jul 13. doi:10.1038/s41467-017-00138-x
  - 25) de Jonge G, Dos Santos TL, Cruz BR, Simionatto M, Bittencourt JIM, Krum EA, Moss MF, Borato DCK. Interference of in vitro hemolysis complete blood count. *J Clin Lab Anal.* 2018 Jun;32(5):e22396. doi: 10.1002/jcla.22396. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29396875; PMCID: PMC6817011.
  - 26) Haga Y, Kay HD, Tempero MA, Zetterman RK. Flow cytometric measurement of intracellular bilirubin in human peripheral blood mononuclear cells exposed

- to unconjugated bilirubin. *Clin Biochem.* 1992 Aug;25(4):277-83. doi: 10.1016/0009-9120(92)80033-d. PMID: 1381998.
- 27) Lam WK, Law YFW, Yip SF. Resolution of platelet count interference due to cytoplasmic fragments of leukaemic cells by flow cytometry in acute myeloid leukaemia. *Int J Lab Hematol.* 2022 Dec;44(6):983-985. doi: 10.1111/ijlh.13859. Epub 2022 May 3. PMID: 35504732.
- 28) Hervé Lecoeur, Marie-Lise Gougeon, Comparative analysis of flow cytometric methods for apoptosis quantitation in murine thymocytes and human peripheral lymphocytes from controls and HIV-infected persons Evidence for interference by granulocytes and erythrocytes, *Journal of Immunological Methods*, Volume 198, Issue 1, 1996, Pages 87-99, ISSN 0022-1759, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(96\)00148-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00148-2).
- 29) Bartels EM, Falbe Wätjen I, Littrup Andersen E, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H, Ribel-Madsen S. Rheumatoid factor and its interference with cytokine measurements: problems and solutions. *Arthritis.* 2011;2011:741071. doi: 10.1155/2011/741071. Epub 2011 Jun 22. PMID: 22046523; PMCID: PMC3200114.
- 30) XUE Yan, XU Li, DANG Liheng, WANG Chao, CUI Yaqiong, WANG Ping, WANG Ning, ZHANG Xinjie, LIU Yang. Interference of high levels of bilirubin on lymphocyte subset determination in peripheral blood by flow cytometry and its elimination methods[J]. *Laboratory Medicine*, 2022, 37(12): 1169-1173
- 31) van Ierssel SH, Hoymans VY, Van Craenenbroeck EM, Van Tendeloo VF, Vrints CJ, et al. (2012) Endothelial Microparticles (EMP) for the Assessment of Endothelial Function: An In Vitro and In Vivo Study on Possible Interference of Plasma Lipids. *PLOS ONE* 7(2): e31496. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031496>
- 32) Yasmine Van Caeneghem, Stijn De Munter, Paola Tieppo, Glenn Goetgeluk, Karin Weening, Greet Verstichel, Sarah Bonte, Tom Taghon, Georges Leclercq, Tessa Kerre, Reno Debets, David Vermijlen, Hinrich Abken & Bart Vandekerckhove (2017) Antigen receptor-redirected T cells derived from hematopoietic precursor cells lack expression of the endogenous TCR/CD3 receptor and exhibit specific antitumor capacities, *Oncolimmunology*, 6:3, DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460
- 33) Lamia Achour, Mark G. H. Scott, Hamasseh Shirvani, Alain Thuret, Georges Bismuth, Catherine Labbé-Jullié, Stefano Marullo; CD4-CCR5 interaction in intracellular compartments contributes to receptor expression at the cell surface. *Blood* 2009; 113 (9): 1938-1947. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-141275>
- 34) A. Stronkhorst, G. N. J. Tytgat & S. J. H. Van Deventer (1992) CD4 Antibody

Treatment in Crohn's Disease, Scandinavian Journal of Gastroenterology, 27:sup194, 61-65, DOI: 10.3109/00365529209096029

- 35) Zinzani, P.L., Minotti, G. Anti-CD19 monoclonal antibodies for the treatment of relapsed or refractory B-cell malignancies: a narrative review with focus on diffuse large B-cell lymphoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 148, 177–190 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00432-021-03833-x>
- 36) Whiteman KR, Johnson HA, Mayo MF, Audette CA, Carrigan CN, LaBelle A, Zukerberg L, Lambert JM, Lutz RJ. Lorvotuzumab mertansine, a CD56-targeting antibody-drug conjugate with potent antitumor activity against small cell lung cancer in human xenograft models. *MAbs*. 2014 Mar-Apr;6(2):556-66. doi: 10.4161/mabs.27756. Epub 2014 Jan 8. PMID: 24492307; PMCID: PMC3984343.
- 37) J Frengen, B Kierulf, R Schmid, T Lindmo, K Nustad, Demonstration and minimization of serum interference in flow cytometric two-site immunoassays, *Clinical Chemistry*, Volume 40, Issue 3, 1 March 1994, Pages 420–425, <https://doi.org/10.1093/clinchem/40.3.420>

## 16. Marcas comerciales

BD FACSCanto™ II, BD FACSLyric™, BD Multitest™ y FlowJo™ son marcas registradas de Becton, Dickinson and Company, CD-Chex Plus® es marca registrada de Streck, Cy™ es marca registrada de Cytiva, CyLyse™ FX, Sysmex XN-1000™ y Sysmex XF-1600™ son marcas registradas de Sysmex Corporation, VenturiOne® es marca registrada de Applied Cytometry, Infinicyt™ es marca registrada de Cytognos S.L..

## 17. Historial de revisiones

Versión 2, ED7736\_IFU\_v2

- 1) Citómetros de flujo actualizados en los que se ha probado el dispositivo.
- 2) Almacenamiento de muestras actualizado. Se agregaron interferencias endógenas y exógenas.
- 3) Precisión actualizada (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)
- 4) Linealidad actualizada (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)
- 5) Límite de detección/Límite de cuantificación/Límite de ensayo actualizado (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF 1600™)
- 6) Repetibilidad y reproducibilidad actualizadas (citómetros de flujo BD FACSCanto™ II, Beckman Coulter DxFlex, Sysmex XF-1600™)



7) Valores esperados eliminados

8) Referencias actualizadas

## **18. Fabricante**

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Czech Republic

### **Información de contacto**

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

## **19. Representantes autorizados**

N/A

**AVISO:** Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá notificarse al fabricante y a la autoridad local competente.